

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09157254 A**(43) Date of publication of application: **17 . 06 . 97**

(51) Int. Cl.

C07D211/56
A61K 31/445
A61K 31/445
// C12N 9/99

(21) Application number: **07314562**(22) Date of filing: **01 . 12 . 95**(71) Applicant: **MICROBIAL CHEM RES FOUND**

(72) Inventor:
NISHIMURA YOSHIO
SATOU TAKAHIKO
KUDO TOSHIKI
KONDO SHINICHI
TAKEUCHI TOMIO

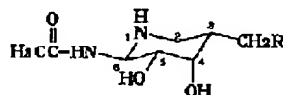
(54) **3-HYDROXYMETHYL-3-DECARBOXYSIASTATIN B DERIVATIVE AND ITS PRODUCTION**

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

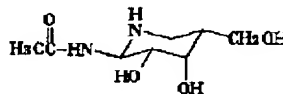
(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject low-toxic, water-soluble new compound potent in glycosidase inhibitory activity, thus hopeful of its application as e.g. an inhibitor for metastasis.

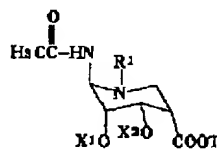
SOLUTION: This new compound, a siastatin B derivative (salt), is expressed by formula I (R is hydroxyl, methylthio, methylsulfinyl, amino or azido), e.g. 3-hydroxymethyl-3-decarboxysiaastatin B (salt) of formula II. The compound of formula I is obtained, for example, by reducing the 3-site carboxylate of an N-protected or nonprotected-siaastatin B ester of formula III (R¹ is H or an imino-protecting group; X¹ and X² are each a monovalent hydroxyl-protecting group, etc.; T is an ester-forming group) to convert the carboxylate into hydroxymethyl to form a compound of formula IV and eliminating both imino-protective group and hydroxyl-protective group therefrom.



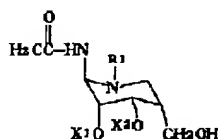
I



II



III



IV

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-157254

(43)公開日 平成9年(1997)6月17日

| | | | | |
|--------------------------|------|--------|----------------|--------|
| (51)Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
| C 0 7 D 211/56 | | | C 0 7 D 211/56 | |
| A 6 1 K 31/445 | ADU | | A 6 1 K 31/445 | ADU |
| | AED | | | AED |
| // C 1 2 N 9/99 | | | C 1 2 N 9/99 | |

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 16 頁)

(21)出願番号 特願平7-314562

(22)出願日 平成7年(1995)12月1日

(71)出願人 000173913

財団法人微生物化学研究会

東京都品川区上大崎3丁目14番23号

(72)発明者 西村 吉男

東京都狛江市岩戸南三丁目18番21号

(72)発明者 佐藤 尊彦

神奈川県藤沢市湘南台五丁目11番21号

(72)発明者 工藤 利秋

神奈川県横浜市戸塚区戸塚町1873番地21

(72)発明者 近藤 信一

東京都大田区南六郷三丁目1番1号 ロイヤルハイツ南六郷608

(74)代理人 弁理士 八木田 茂 (外2名)

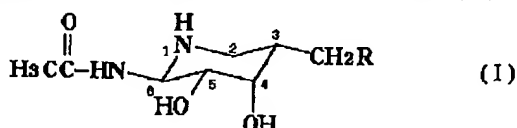
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB誘導体およびそれらの製造方法

(57)【要約】

【課題】 グリコシダーゼに対して阻害活性を有する新規物質として3-ヒドロキシ-3-デカルボキシシアスタチンB誘導体を創製し、またそれらの製造法を提供することが目的である。

【解決手段】 シアスタチンBより製造できるN-保護-4,5-ジ-O-保護-シアスタチンBエステルから出発する複数の工程を含む方法により、次の一般式(I)

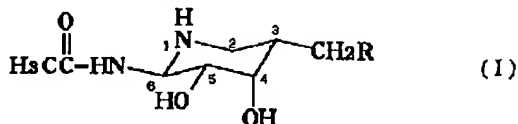


(式中、Rはヒドロキシル基、メチルチオ基、メチルスルフィニル基、アミノ基またはアジド基である)で示されるシアスタチンB誘導体およびその塩がグリコシダーゼ阻害物質として得られた。一般式(I)の新規化合物は癌細胞の転移の抑制剤としても有効であると期待される。

1

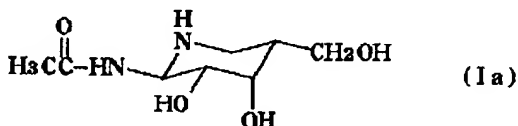
【特許請求の範囲】

【請求項 1】 一般式 (I)



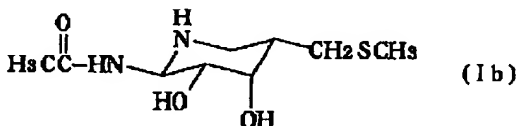
(式中、Rはヒドロキシル基、メチルチオ基、メチルスルフィニル基、アミノ基またはアジド基である)で示されるシアスタチンB誘導体およびその塩。

【請求項 2】 請求項 1 に示される一般式 (I) で R がヒドロキシル基である化合物であり、すなわち次式 (Ia)



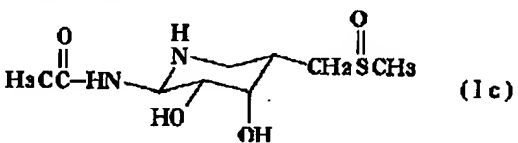
で示される 3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBまたはその塩である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】 請求項 1 に示される一般式 (I) で R がメチルチオ基-SCH₃である化合物であり、すなわち次式 (Ib)



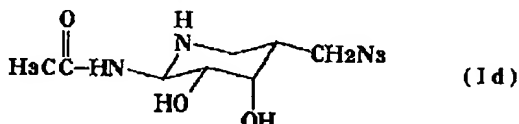
で示される 3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンBまたはその塩である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】 請求項 1 に示される一般式 (I) で R がメチルスルフィニル基-S(=O)CH₃である化合物であり、すなわち次式 (Ic)



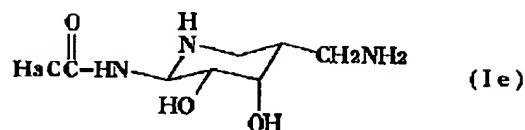
で示される 3-メチルスルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチンBまたはその塩である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】 請求項 1 に示される一般式 (I) で R がアジド基-N₃である化合物であり、すなわち次式 (Id)



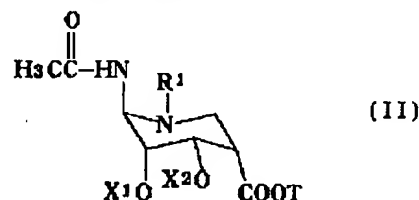
で示される 3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBまたはその塩である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】 請求項 1 に示される一般式 (I) で R がアミノ基である化合物であり、すなわち次式 (Ie)

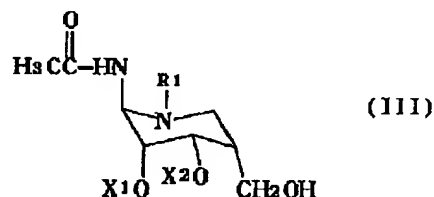


* で示される 3-アミノメチル-3-デカルボキシシアスタチンBまたはその塩である請求項 1 に記載の化合物。

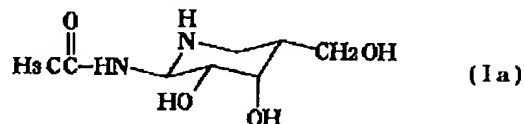
【請求項 7】 次の一般式 (II)



(式中、R¹は水素原子またはイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示し、Tはエステル形成基を示す)で示されるN-保護または非保護-シアスタチンBエステルの 3 位カルボキシレート基(-COOT)を還元によりヒドロキシメチル基に転化し、これにより次の一般式 (II')

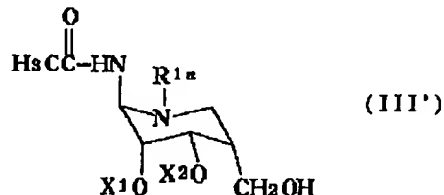


(式中、R¹、X¹およびX²は前記と同じ意味をもつ)で示されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(III)の化合物からイミノ保護基 (R¹) があればこれを脱離し且つヒドロキシル保護基(X¹、X²)を脱離することを特徴とする、次式(Ia)



で示される 3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造法。

40 【請求項 8】 次式 (III')



(式中、R^{1a}はイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示す)で示されるN-保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロ

(IV)

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{CC}-\text{HN} \\ | \\ \text{N} \\ | \quad | \quad | \\ \text{X}_1\text{O} \quad \text{X}_2\text{O} \quad \text{CH}_2\text{OSO}_2\text{R}^2 \end{array} \quad (\text{V})$$

(VI)

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{CC}-\text{HN} \\ | \\ \text{C} \\ | \quad | \quad | \\ \text{X}^1\text{O} \quad \text{N}^{\text{R}^1\text{a}} \quad \text{C}^{\text{X}^2\text{O}} \\ | \\ \text{CH}_2\text{SCH}_3 \end{array} \quad (\text{VII})$$
$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{H}_3\text{CC}-\text{HN} \\
 | \\
 \text{N} \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{X}^1\text{O} \quad \text{X}^2\text{O} \quad \text{CH}_2\text{OSO}_2\text{R}^2
 \end{array}
 \quad (\text{V})$$

✕

4

CCSC[C@H]1[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H](NC(=O)C)[C@H]1N (Ib)CCSCC[C@H]1O[C@@H](C(=O)C)[C@H](O)[C@@H](N1)O (1b)

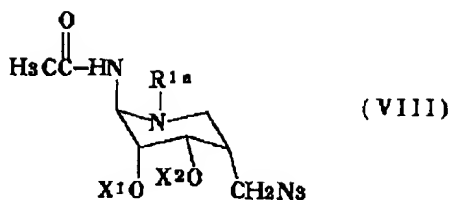
* 20

CC(=O)N[C@@H]1[C@H](O)[C@@H](O)[C@H](CS(=O)C)[C@@H](N)C1 (Ic)
$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{CC}-\text{NH} \end{array} \begin{array}{c} \text{R}_{1a} \\ | \\ \text{N} \\ | \\ \text{X}^1\text{O} \quad \text{X}^2\text{O} \quad \text{CH}_2\text{N}_3 \end{array} \quad (\text{VIII})$$

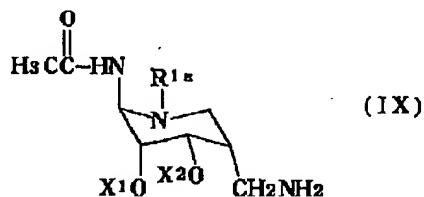
40

$$\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{C}_2\text{H}_4-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{Na} \quad (\text{Id})$$

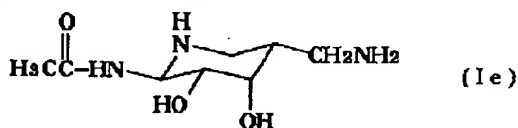
【請求項 11】 次式 (VIII)



(式中、R^{1a}はイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で示されるN-保護-4, 5-O-保護-3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBのアジド基を還元反応にかけて次式(IX)



(式中、R^{1a}、X¹およびX²は前記と同じ意味をもつ)で示される化合物を生成し、次いで式(IX)の化合物から残留する保護基(R^{1a}、X¹、X²)を常法で脱離するか、あるいは式(VIII)の化合物から保護基(R^{1a}、X¹、X²)を先づ常法で脱離して式(Id)の3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(Id)の化合物のアジド基を還元反応にかけることを特徴とする、次式(Ie)



で示される3-アミノメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造法。

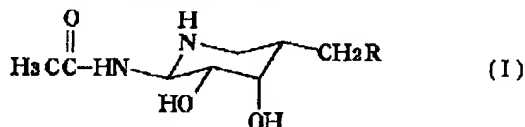
【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はグリコシダーゼに対する阻害活性を有する新規シアスタチンB誘導体およびその薬学的に許容される塩類に関し、また本発明はそれらの製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】種々なグリコシダーゼは動物細胞、微生物*



(式中、Rはヒドロキシル基、メチルチオ基、メチルスルフィニル基、アミノ基またはアジド基である)で示されるシアスタチンB誘導体、およびそれらの製薬学的に許容できる塩が提供される。

【0008】本発明による一般式(I)のシアスタチンB誘導体は下記の5つの化合物を包含する。

* 物やウィルスなどに幅広く分布する酵素であり、哺乳動物では糖質代謝を通して、細胞の癌化、癌細胞の転移や、ウィルス感染、細菌感染や免疫機能、ならびに卵子の受精などを含めて、糖蛋白や糖脂質糖鎖が関与する多種多様な生理機序をグリコシダーゼが支配していると考えられている。また、ある種のグリコシダーゼは、デンプンやシュクロースなどの多糖やオリゴ糖の分解を通して食物の消化機構に関与している。さらに、細胞膜上に結合している糖鎖を切断するグリコシダーゼの阻害物質は、免疫調節作用および癌細胞の転移を抑制する作用、ならびにインフルエンザウィルスの感染を抑制する作用を有する可能性があることが認められている。また、食物の消化機構に関与する異化作用グリコシダーゼに対する阻害物質は、抗糖尿病薬、抗肥満薬として有用であると重要視されている。

【0003】このようにグリコシダーゼは生体で重要な酵素であるから、グリコシダーゼの生理学的性質の研究も重要である。グリコシダーゼの性質を研究する上には、グリコシダーゼの酵素活性を阻害する作用を有する物質が利用できる。また、ある種のグリコシダーゼ阻害物質は癌細胞の転移の抑制剤として利用できると期待できる。

【0004】従って、毒性が低く且つ水溶性でしかもグリコシダーゼ阻害活性の強い新しい化合物を提供することが強く要望されている。

【0005】

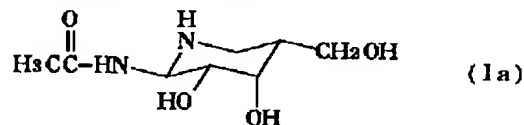
【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、グリコシダーゼに強い阻害活性を示す新規なシアスタチンB誘導体を提供することであり、またそのような化合物の製造方法を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、グリコシダーゼ阻害物質としてのシアスタチンB誘導体に注目して鋭意研究を行った結果、強力なグリコシダーゼ阻害活性を有し、且つ後記の一般式(I)で総括的に示される数種の新規シアスタチンB誘導体を合成することに成功した。また、一般式(I)のシアスタチンB誘導体を効率よく合成できる新規な製造方法を見出した。これらの知見に基づいて、本発明を完成した。

【0007】従って、第一の本発明では、一般式(I)

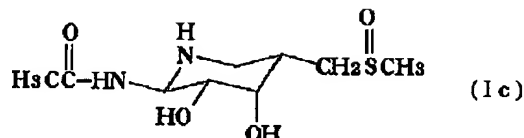
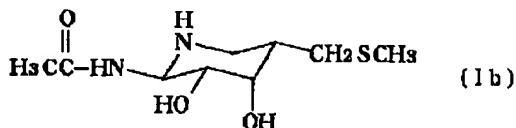
※ (1) 化合物No. 1 : 次式



※ 50 で示される3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシア

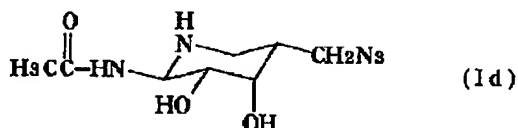
スタチンB〔一般式(I)でRがヒドロキシル基である化合物に相当する〕。

【0009】(2)化合物No. 2: 次式



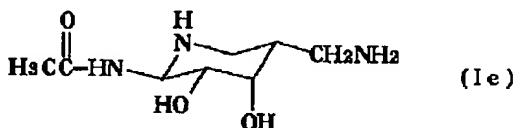
で示される3-メチルスルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチンB〔一般式(I)でRがメチルスルフィニル基である化合物に相当する〕。

【0011】(4)化合物No. 4: 次式



で示される3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンB〔一般式(I)でRがアジド基である化合物に相当する〕。

【0012】(5)化合物No. 5: 次式



で示される3-アミノメチル-3-デカルボキシシアスタチンB〔一般式(I)でRがアミノ基である化合物に相当する〕。

【0013】第一の本発明による一般式(I)の化合物の塩には、一般式(I)の化合物のイミノ基と、存在すればアミノ基における酸付加塩が包含され、特に製薬学的に許容できる鉱酸、例えば塩酸、硫酸、あるいは有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸、等との製薬学的に許容できる酸付加塩がある。

【0014】次に、第一の本発明による一般式(I)の各化合物の物理化学的性質を示す。

【0015】(a) 3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(化合物No. 1):

色および形状: 無色不定形固体

分子式: $C_8H_{16}N_2O_4$

比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 58.8^\circ$ (c 0.37, メタノール)

1H -NMRスペクトル(400MHz, CD_3OD , δ ppm): 2.04(1H, m, 3-H), 2.06(3H, s, $NHCOCH_3$), 3.07-3.14(2H, m, 2-H), 3.57(1H, dd, $J=10.8, 7.3$ Hz, $-CH_2OH$), 3.67(1H, dd, $J=10.8, 6.3$ Hz, $-CH_2OH$), 3.72(1H, dd, $J=10.3, 2.4$ Hz, 5-H), 4.09(1H, t, $J=2.4$ Hz, 4-H), 4.95(1H, d, $J=10.3$ Hz, 6-H)

* で示される3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンB〔一般式(I)でRがメチルチオ基である化合物に相当する〕。

【0010】(3)化合物No. 3: 次式

溶解性: 水によく溶ける。

【0016】(b) 3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(化合物No. 2):

色および形状: 無色不定形固体

分子式: $C_9H_{18}N_2O_3S$

比旋光度: $[\alpha]_D^{24} + 19.8^\circ$ (c 0.09, メタノール)

1H -NMRスペクトル(400MHz, D_2O , δ ppm): 1.83(1H, m, 3-H), 1.93(3H, s, $-NHCOCH_3$), 2.08(3H, m, $-SC$), 2.45(1H, dd, $J=13.2, 7.3$ Hz, $-CH_2S-$), 2.69(1H, dd, $J=13.2, 7.8$ Hz, $-CH_2S-$), 2.73-2.83(2H, m, 2-H), 3.37(1H, dd, $J=9.8, 2.4$ Hz, 5-H), 4.06(1H, t, $J=2.4$ Hz, 4-H), 4.64(1H, d, $J=9.8$ Hz, 6-H)

溶解性: 水によく溶ける。

【0017】(c) 3-メチルスルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(化合物No. 3):

色および形状: 無色不定形固体

分子式: $C_9H_{18}N_2O_4S$

1H -NMRスペクトル(400MHz, CD_3OD , δ ppm): 1.99(3H, s, $-NHCOCH_3$), 2.20-2.30(1H, m, 3-H), 2.67(3H, s, $-SOCH_3$), 2.70-3.00(4H, m, 2-H, $-CH_2SO-$), 3.46, 3.48 (total 1H, each t, $J=2.4, 2.7$ Hz, 5H-1), 3.98, 4.12 (total 1H, t, br s $J=2.4$ Hz, 4-H), 4.69, 4.72 (total 1H, each d, $J=2.0$ Hz, 6-H)

溶解性: 水によく溶ける。

【0018】(d) 3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(化合物No. 4):

色および形状: 無色不定形固体

分子式: $C_8H_{16}N_5O_3$

比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 25.7^\circ$ (c 0.25, メタノール)

1H -NMRスペクトル(400MHz, CD_3OD , δ ppm): 1.87(1H, m, 3-H), 1.98(3H, s, $-NHCOCH_3$), 2.72(1H, dd, $J=12.0, 4.6$ Hz, 2-Heq), 2.78(1H, t, $J=12.0$ Hz, 2-Hax), 3.28(1H, dd, $J=12.2, 7.8$ Hz, $-CH_2N_3$), 3.37(1H, dd, $J=9.3, 2.9$ Hz, 5-H), 3.44(1H, dd, $J=9.3, 7.3$ Hz, $-CH_2N_3$), 4.00(1H, t, $J=2.2$ Hz, 4-H), 4.64(1H, d, $J=9.3$ Hz, 6-H)

溶解性: 水によく溶ける。

【0019】(e) 3-アミノメチル-3-デカルボキシシ

アスタチンB塩酸塩(化合物No. 5):

色および形状: 無色粉末

分子式: $C_8H_{17}N_3O_3$

比旋光度: $[\alpha]_D^{25} +21.5^\circ$ (c 0.41, メタノール)

1H -NMR スペクトル(400MHz, CD_3OD , δ ppm): 1.68(1H, m, 3-H), 1.98(3H, s, $-NHC(=O)CH_3$), 2.61(1H, dd, $J=12.7, 6.3$ Hz, $-CH_2NH_2$), 2.65-2.80(3H, m, 6-H, $-CH_2NH_2$), 3.35(1H, dd, $J=9.8, 2.4$ Hz, 3-H), 4.04(1H, t, $J=2.4$ Hz, 4-H), 4.61(1H, d, $J=9.8$ Hz, 2-H)

溶解性: 水によく溶ける。

【0020】本発明による一般式(I)の化合物がグリコシダーゼ阻害活性を有することを上記の具体例の化合物No. 1~5について、以下に試験例により示す。

【0021】試験例1

本例は、本発明の化合物のN-アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

【0022】N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性の評価は「Methods in Enzymology」第28巻、772頁(1972)に記載の方法の改良法で行った。

【0023】即ち、本発明の化合物No. 1~5の何れか一つを検体として含む水溶液あるいは水10 μ lと0.1M酢酸アンモニウム緩衝液(pH4.5)に溶解させたウシ精巣上体の β -N-アセチルグルコサミニダーゼA(Sigma社製)40 μ lを96穴タイタープレート中、37℃で10分間ブレインキュベーションした。ブレインキュベーション終了後、同緩衝液に溶解させた12mMパラニトロフェニルアセチル- β -D-グルコサミニド *

【表 1】

| 試供薬剤 | 50%阻害濃度 (IC ₅₀) (μ g/ml) | |
|----------|---|-------|
| | 酵素A* | 酵素B** |
| 化合物No. 1 | 0.042 | 0.27 |
| 化合物No. 2 | 0.28 | 20 |
| 化合物No. 3 | >100 | 56 |
| 化合物No. 4 | >100 | 0.6 |
| 化合物No. 5 | >100 | 38 |

* 酵素A: β -N-アセチルグルコサミニダーゼ (ウシ精巣上体)

** 酵素B: α -N-アセチルガラクトサミニダーゼ (ニワトリ肝臓)

【0028】表1に示す通り、一般式(I)で示される本発明化合物はいずれもN-アセチルグルコサミニダーゼおよびN-アセチルガラクトサミニダーゼを強く阻害する。従って、N-アセチルグルコサミニダーゼおよびN-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害剤として極めて

* 20 μ lを基質として加えた後、37℃で30分間反応させた。反応後、反応液に1M炭酸ナトリウム水溶液100 μ lを加えて酵素反応を停止させた。その後、その反応液の405nmにおける吸光度(a)を測定した。同時に検体を含まない対照試験での反応液の吸光度(b)を測定し、それぞれに対する反応をしない盲検の吸光度(a')および(b')を測定した。N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害率は式 $[1 - (a - a') / (b - b')] \times 100$ により計算した。酵素の50%阻害率を示す検体の濃度をIC₅₀の値とした。得られた試験結果は後記の表1に示す。

【0024】試験例2

本例は、本発明化合物のN-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

【0025】N-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第252巻、5194~5200頁(1977)に記載の方法の改良法で行った。

【0026】即ち、酵素としてニワトリ肝臓の α -N-アセチルグルコサミニダーゼ (Sigma社製) を用い、基質として2mMパラニトロフェニル-N-アセチルガラクトサミニド50 μ lを加えて、上記N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性の試験と同様の方法で試験を行った。また、上記と同様の方法で阻害活性を測定し、阻害率を計算した。得られた試験結果を次の表1に示す。

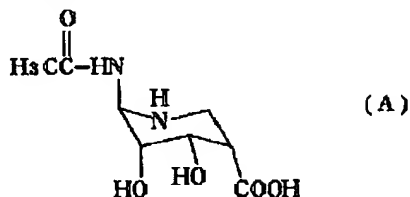
【0027】

有用である。

【0029】また、一般式(I)で示される本発明化合物は、哺乳動物における癌細胞の転移の機序に関与するグリコシダーゼも阻害できる活性を有すると推定できるから、癌の治療に利用できる癌細胞の転移抑制剤として有用であると期待される。また、グリコシダーゼの生体内の働きを研究する試薬として有用である。

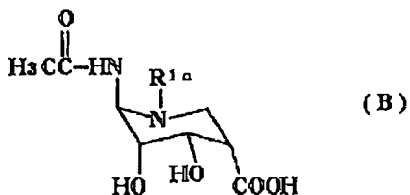
【0030】次に、一般式(I)で示されるシアスタチンB誘導体の製造法を説明する。

【0031】本発明による一般式 (I) のシアスタチン B 誘導体を製造するには、最初の原料として次式 (A)

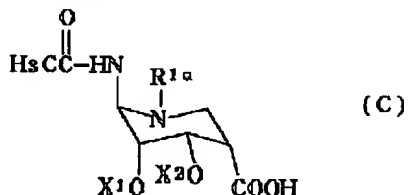


で示されるシアスタチン B を用いる。シアスタチン B は放射菌ストレプトミセス・バーチシラス・バリエタス・クインツム (*Streptomyces verticillus* var. *quintum*) (微工研菌寄第 507 号) を培養して、その培養液から採取する方法 (特公昭 55-46714 号) によって製造される。

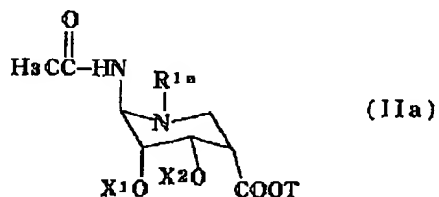
【0032】この原料のシアスタチン B のイミノ基を適当なイミノ保護基 (R^1) で保護して次式 (B)



(式中、 R^1 はイミノ保護基、好ましくはアルコキシカルボニル基である) で示される N-保護-シアスタチン B を作り、次に式 (B) の化合物の 4 位および 5 位のヒドロキシル基を、1 価または 2 価のヒドロキシル保護基 (X^1 , X^2) で保護して次式 (C)

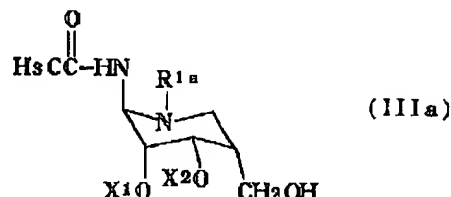


(式中、 R^1 はイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 は夫々に 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 の両者は共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個、例えばイソプロピリデン基、ベンジリデン基、シクロアルキリデン基またはテトラヒドロピラニリデン基を示す) で表される N-保護-4, 5-ジ-O-保護シアスタチン B を生成し、次に式 (C) の化合物の 3 位のカルボキシル基をエステル化剤と反応させて次式 (IIa)



(式中、 R^1 , X^1 , X^2 は前記と同じ意味をもち、T はエステル形成基である) で示されるシアスタチン B 保護誘導体を生成し、さらに式 (IIa) の化合物の 3 位カル

ボキシレート基-COOT を還元によりヒドロキシメチル基に転化して次式 (IIIa)

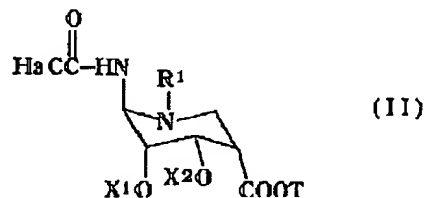


(式中、 R^1 , X^1 , X^2 は前記と同じ意味をもつ) で示される N-保護-4, 5-O-ジ-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を調製する。

【0033】上記のように調製された式 (IIIa) の化合物を出発化合物として用いて、これを複数の工程で化学的に変換することにより、一般式 (I) のシアスタチン B 誘導体を製造できる。しかし、式 (Ia) 本発明化合物を製造する場合には、式 (IIa) の化合物の 1 位イミノ基を保護することは必ずしも必要でない。

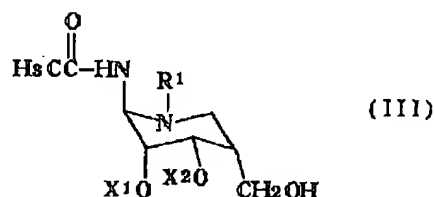
【0034】従って、第二の本発明においては、次の一般式 (II)

20



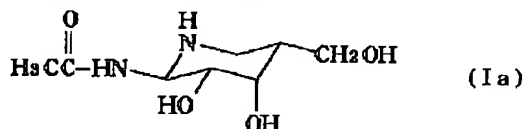
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示し、T はエステル形成基を示す) で示される N-保護または非保護-シアスタチン B エステルの 3 位カルボキシレート基 (-COOT) を還元によりヒドロキシメチル基に転化し、これにより次の一般式 (II I)

30



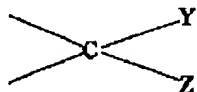
(式中、 R^1 , X^1 および X^2 は前記と同じ意味をもつ) で示される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (III) の化合物からイミノ保護基 (R^1) があればこれを脱離し且つヒドロキシル保護基 (X^1 , X^2) を脱離することを特徴とする、次式 (Ia)

50



で示される3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造法が提供される。

【0035】第二の本発明の方法の各工程の実施法を説明する。先づ式(IIa)のN-保護シアスタチンB誘導体の調製法を説明する。式(IIa)の化合物におけるイミノ保護基(R¹)は、加水分解法で脱離できるアルコキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基またはアラルキルオキシカルボニル基であるのが好ましく、特にターシャリーブトキシカルボニル基であるのが便利である。シアスタチンBへのイミノ保護基(R¹)の導入は常法で行うことができ、これにより前出の式(B)のN-保護シアスタチンBが生成される。式(B)の化合物の4位および5位のヒドロキシル基を次いで保護する。これにより得られた前出の式(C)のN-保護-4,5-O-保護シアスタチンBの、従って前記の式(II)の化合物の4位及び5位のヒドロキシル基を同時に保護する2価のヒドロキシル保護基(X¹、X²)はイソプロピリデン基であるのが便利である。しかし、一般的にはその他の各種のヒドロキシル保護基を保護基X¹、X²として利用できる。すなわち、次式



〔但しY及びZは、互いに同じ又は異なってもよく、それぞれが水素、アルキル基(好ましくは炭素数1~4の低級アルキル基)又はアリール基(好ましくはフェニル基又は置換フェニル基、例えばパラ-メトキシフェニル基)である〕で表される2価のヒドロキシル保護基(イソプロピリデン基を包含)を利用できる。またイソプロピリデン基に代えて、ベンジリデン基により、あるいはシクロアルキリデン基、例えばシクロヘキシリデン基またはテトラヒドロピラニリデン基により式(C)の化合物の4位および5位のヒドロキシル基を同時に保護することも便利である。

【0036】このような2価のヒドロキシル保護基の導入は、糖の化学において、隣接する2個の炭素原子に結合するヒドロキシル基の2個を同時に保護するための慣用のヒドロキシ基保護の技術に従って行なわれる。また別に、適当な1価のヒドロキシル保護基(X¹、X²)としてトリアルキシルシリル基、特にターシャリーブチルジメチルシリル基を用いることができ、常用の技術で導入できる。

【0037】式(C)の化合物における4位および5位のヒドロキシル基を保護する保護基として4,5-O-イソプロピリデン基を導入する反応を例示すると、式

(B)の化合物を例えばN,N-ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒に溶解し、その溶液に例えば2,2-ジメトキシプロパン(イソプロピリデン基の導入剤)を加え、さらにクロロトリメチルシランの如き塩化アルキルシラン、またはパラ0ルエンスルホン酸などの酸触媒を加

えて室温で数時間反応させることにより、4,5-O-イソプロピリデン誘導体が得られる。

【0038】なお、上記のヒドロキシル基保護の反応に用いられた2,2-ジメトキシプロパンに代えて、ベンツアルデヒドジメチルアセタール又は1,1-ジメトキシシクロヘキサンあるいはその他の各種のアセタールおよびケタール試薬を用いると、4,5-O-ベンジリデン基又はシクロヘキシリデン基を導入された又はその他のアセタールおよびケタール基を導入された式(C)の化合物が得られる。

【0039】つぎに、式(C)の化合物の3位カルボキシル基にエステル形成基(T)を導入するために、該化合物を、N,N-ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒に溶解し、その溶液にジイソプロピルアミンやトリエチルアミンなどの塩基を加え、この塩基の存在下にエステル化剤として例えばメトキシエトキシメチルクロリドを加える。得られる反応混合物を室温で数時間反応させることにより一般式(IIa)のエステル化化合物(但しTがメトキシエトキシメチル基である場合)を得る。

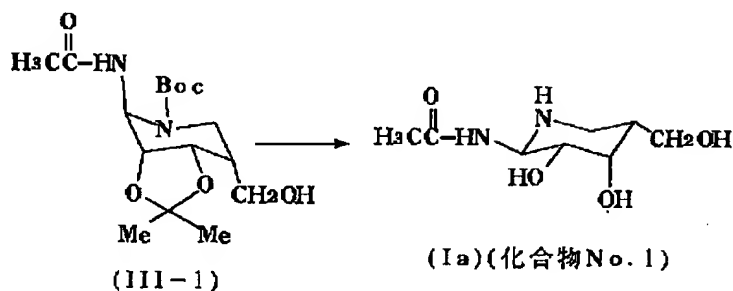
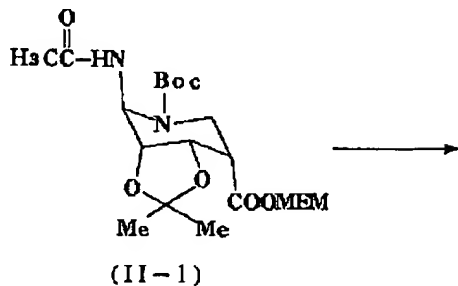
【0040】なお、上記のエステル化剤として、メトキシエトキシメチルクロリドに代えて、アルキルクロリド、アリールクロリド、アラルキルクロリドや、低級アルコキシメチルクロリド、アラルキルオキシメチルクロリド、又はメトキシメチルクロリド等の如きアルコキシ置換-低級アルコキシメチルクロリドをエステル形成基(T)の導入剤として用いると、式(IIa)の化合物におけるエステル形成基(T)が夫々に、アルキル基、アリール基、アラルキル基、低級アルコキシメチル基、アラルキルオキシメチル基又はアルコキシ置換-低級アルコキシメチル基である場合の式(IIa)の出発化合物が生成される。

【0041】第二の本発明方法では、一般式(II)の化合物の3位カルボキシレート基(-COOT)を還元するために、該化合物をテトラヒドロフラン等の単一の有機溶媒、あるいは混合有機溶媒に溶解し、この溶液に水素化ホウ素ナトリウム、水素化リチウムアルミニウムまたは水素化ジイソブチルアルミニウムなどの還元剤を加え、室温で数時間反応させると、3位カルボキシレート基が還元によりヒドロキシメチル基に転化される。これにより、一般式(III)のアルコール化合物が得られる。

【0042】次いで、一般式(III)の化合物から、イミノ保護基(R¹)があればこれを脱離し、ヒドロキシル保護基(X¹、X²)を脱離する。その場合の脱離反応は保護基の種類に応じて適当な方法、例えば加水分解法又は加水素分解法により常法で行い得る。例えばイミノ保護基(R¹)がターシャリーブトキシカルボニル基(Boc)であり、ヒドロキシル保護基(X¹、X²)がイソプロピリデン基である場合には、上記の式(III)の化合物を、1~4N塩酸-ジオキサンなどの塩化水素ガスを含む有機

溶媒に溶解し、その溶液を室温に1～12時間放置してイミノ基保護基Bocおよびヒドロキシル保護基イソプロピリデン基を同時に除去することができる。これにより式(Ia)の本発明の化合物すなわち化合物No. 1を塩酸塩として生成する。

【0043】第二の本発明方法において、出発化合物として後記の式(II-1)で示されるN-(ターシャリープト *



【0045】上記の反応チャート1について説明するに、式(II-1)で示されるN-(ターシャリープトキシカルボニル)-4,5-O-イソプロピリデンシアスタチンBの2-メトキシエトキシメチルエステル〔比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ -18.7° (c 0.91、クロロホルム)の無色シロップ状物質〕をテトラヒドロフランと2,2,2-トリフルオロエタノールの混合溶媒に溶かし、その溶液に水素化ホウ素ナトリウムのような還元剤を加えて室温で還元反応させる。これにより、式(II-1)の化合物の3位カルボキシレート基が還元によりヒドロキシメチル基に転化され、式(III-1)で示されるN-(ターシャリープトキシカルボニル)-4,5-O-イソプロピリデン-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。

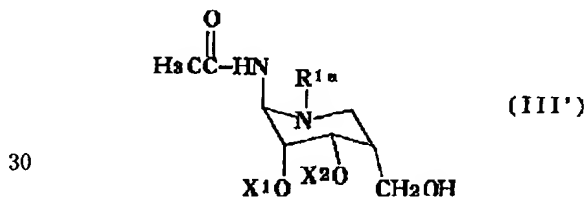
【0046】次いで式(III-1)の化合物を、1～4N塩酸-ジオキサンなどの塩化水素ガスを含む有機溶媒に溶解し、室温に1～12時間放置してイミノ保護基Bocおよびヒドロキシル保護基イソプロピリデン基を除去すると、式(Ia)の本発明の化合物、すなわち化合物No. 1を塩酸塩として生成する。

【0047】さらに、第三の本発明においては、次式(III')

※

* キシカルボニル)-4,5-O-イソプロピリデンシアスタチンBの2-メトキシエトキシメチルエステルを用いる場合の各工程を下記の反応チャート1に示す。但し反応チャート1でBocは第3級ブトキシカルボニル基(CH_3)₃-CO-CO-を示し、Meはメチル基を示し、MEMは2-メトキシエトキシメチル基を示す。

【0044】反応チャート1



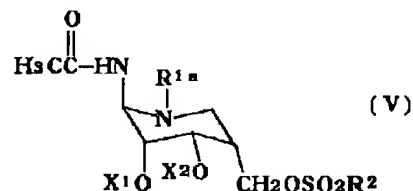
30

※(式中、R^{1a}はイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに1個のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して2個のヒドロキシル保護基1個を示す)で示されるN-保護-4,5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを、次式(I V)



40

(式中、R²は低級アルキル基、アリール基、好ましくはフェニル基、低級アルキル置換フェニル基またはアラルキル基であり、Qはハロゲン原子である)で示される有機スルホン酸のハロゲン化物と有機塩基の存在下に反応させて次式(V)



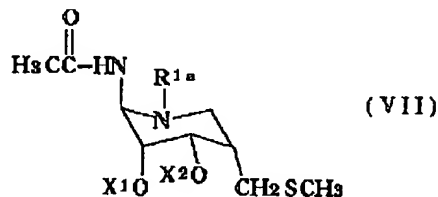
(式中、R^{1a}、X¹、X²およびR²は前記と同じ意味をも

17

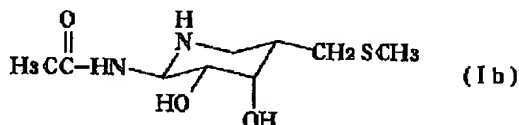
つ)で示されるスルホニル化合物を生成し、次いで式 (V) のスルホニル化合物を次式 (VI)



(式中、Mはアルカリ金属である)で示されるアルカリ金属チオメトキシドと反応させて次式 (VII)



(式中、R^{1a}、X¹およびX²は前記と同じ意味をもつ)で示されるメチルチオ化合物を生成し、さらに式 (VII) の化合物から常法で保護基 (R^{1a}、X¹、X²) を脱離することを特徴とする、次式 (Ib)



で示される3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造法が提供される。

【0048】第三の本発明方法では、第二の本発明方法で生成できる式(III')のN-保護-4,5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを前記のとおり出発化合物として使用する。

【0049】第三の本発明方法では、その第1工程として、式(III')の化合物の3位ヒドロキシメチル基を無水ピリジン中で式(IV)の有機スルホン酸のハロゲン化物、例えば塩化パラトルエンスルホニル(すなわちトシルクロライド)と反応させてスルホニル化する。例えば 30

式(III')の化合物を無水ピリジンに溶解し、これに *

18

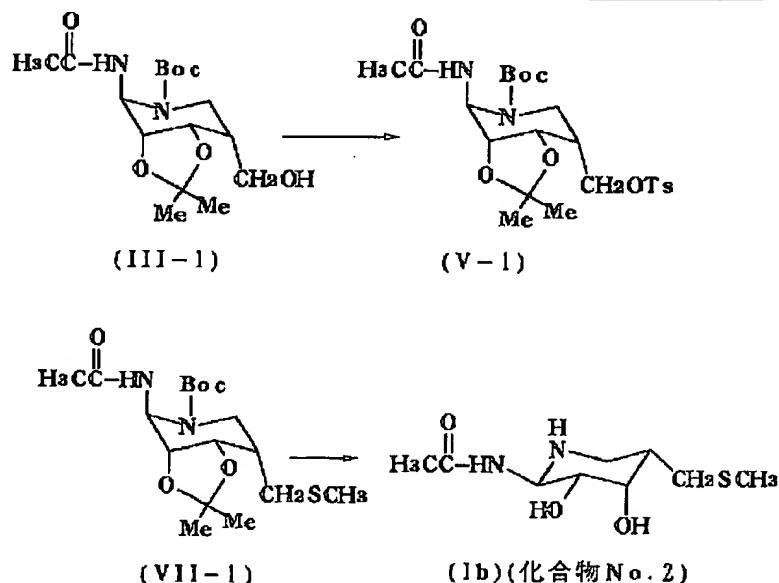
* 塩化パラトルエンスルホニルを加え、室温で一晩反応させることにより、式(V)の化合物を得る。このピリジンに代えて、N,N-ジメチルホルムアミドなどの一般の有機溶媒に式(III')の化合物を溶解し、その溶液にトリエチルアミンやジイソプロピルエチルアミンなどの有機塩基の存在下に式(IV)の有機スルホン酸ハロゲン化物として塩化パラトルエンスルホニルを加えて反応させる時にも、式(V)の化合物が得られる。また、上記の塩化パラトルエンスルホニルに代えて、式(IV)のスルホン酸ハロゲン化物として塩化メタンスルホニルなどハロゲン化アルキルスルホニルやハロゲン化アラルキルスルホニルなどを用いることができ、これにより夫々対応のスルホン酸エステル誘導体を得られる。

【0050】式(IV)の化合物を次いで、N,N-ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒に溶解し、これに式(VI)のアルカリ金属チオメトキシド、例えばナトリウムチオメトキシドを加え、加熱下に、例えば110℃で一晩攪拌することにより、式(VII)のメチルチオ化合物が得られる。さらに、式(VII)の化合物からイミノ保護基(R^{1a})とヒドロキシル保護基(X¹、X²)を、第二の本発明方法における脱保護法と同じ要領で脱離させると、式(Ib)の本発明化合物を得る。

【0051】第三の本発明方法において、出発化合物として後記の式(III-1)で示されるN-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4,5-O-イソプロピリデン-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを用いる場合の各工程を下記の反応チャート2に示す。

【0052】但し反応チャート2でBocおよびMeは前記と同じ意味をもち、Tsはパラトルエンスルホニル基すなわちトシル基を示す。

【0053】反応チャート2



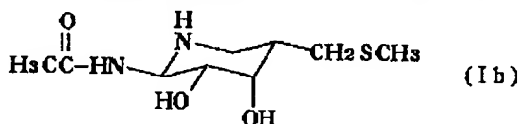
【0054】上記の反応チャート2について説明するに、式(III-1)の化合物を無水ピリジンに溶解し、こ

れに塩化パラトルエンスルホニルの如き有機スルホン酸ハロゲン化物を加え、室温で一晩反応させることによ

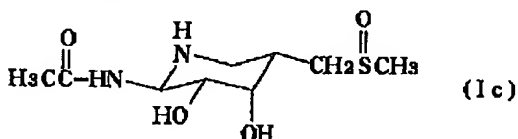
り、式(V-1)のスルホニル化合物を得る。式(V-1)の化合物を、N,N-ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒に溶解し、その溶液にナトリウムチオメトキシドを加え、加熱下に、例えば110℃で一晩反応することにより、式(VII-1)の化合物が得られる。

【0055】次いで、式(VII-1)の化合物からイミノ保護基Bocとヒドロキシル保護基の4,5-O-イソプロピリデン基を第二の本発明方法における同じ要領で脱離すると、式(Ib)の本発明化合物(化合物No. 2)が得られる。

【0056】第四の本発明においては、次式(Ib)



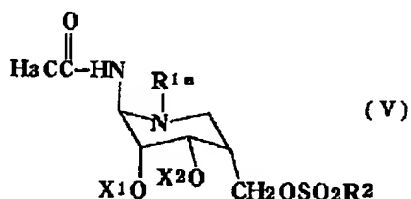
で示される3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを過酸化水素又はその他の温和な酸化剤で酸化することを特徴とする、次式(Ic)



で示される3-メチルスルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造方法が提供される。

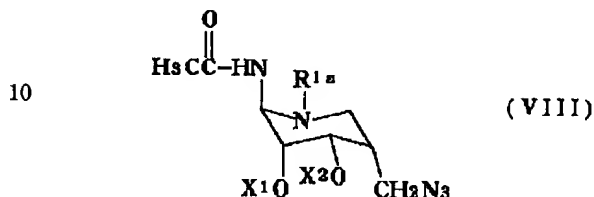
【0057】第四の本発明方法では、第三の本発明方法で得られた式(Ib)の化合物を出発化合物として無保護のまま使用できる。式(Ib)の化合物を、水などの溶媒に溶解し、これに過酸化水素水などの過酸化水素またはその他の温和な酸化剤を加え、室温で反応させることにより酸化すると式(Ic)の本発明化合物が生成する。

【0058】さらに、第五の本発明においては、次式(V)

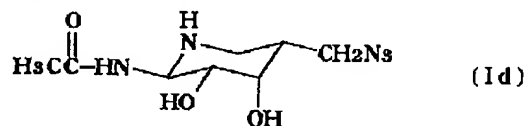


(式中、R^{1a}はイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹ *

*とX²は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示し、R²は低級アルキル基、アリール基、低級アルキル置換フェニル基またはアラルキル基を示す)で示されるN-保護-4,5-O-保護-3-(アルキルまたはアリールまたはアラルキル)スルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチンBをアルカリ金属アジドと反応させて次式(VIII)



(式中、R^{1a}、X¹およびX²は前記と同じ意味をもつ)で示されるアジ化化合物を生成し、次いで式(VIII)の化合物から常法で保護基(R^{1a}、X¹、X²)を脱離することを特徴とする、次式(Id)

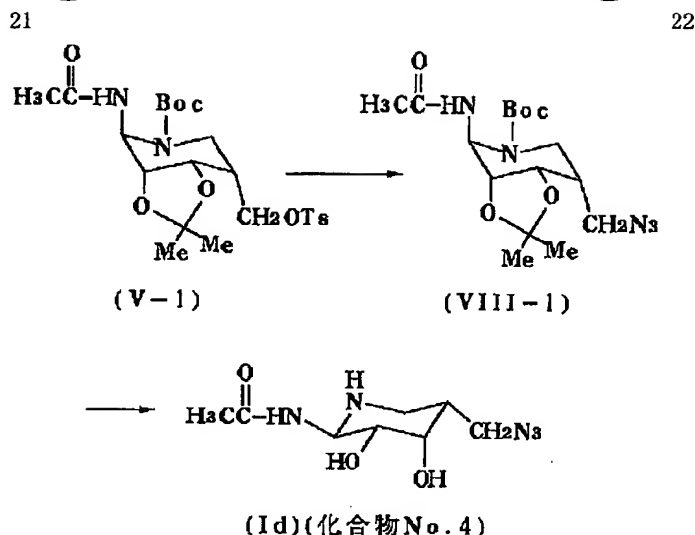


で示される3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造方法が提供される。

【0059】第五の本発明方法では、第三の本発明方法で生成できる式(V)の化合物を出発化合物として使用できる。式(V)の化合物を、N,N-ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒に溶解し、その溶液にアルカリ金属アジド、好ましくはアジ化ナトリウムを加えて、加熱下に反応させると、式(VIII)の化合物が生成される。得られた式(VIII)の化合物から、第二の発明方法におけると同様な要領で保護基(R^{1a}、X¹、X²)が脱離すると、式(Id)の本発明化合物(化合物No. 4)が生成できる。

【0060】第五の本発明方法において、式(V)の化合物として、後記の式(V-1)で示される3-デカルボキシ-1-ターシャリトキシカルボニル-4,5-O-イソプロピリデン-3-(パラトルエンスルホニル)オキシメチル-シアスタチンBを用いる場合の各工程を下記の反応チャート3に示す。但し、反応チャート3では、Boc、MeおよびTsは前記と同じ意味をもつ。

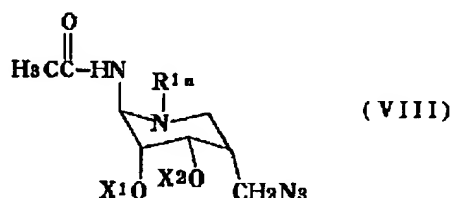
【0061】反応チャート3



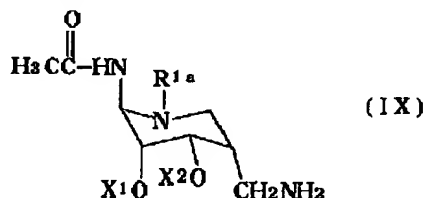
【0062】反応チャート3について説明するに、式(V-1)の化合物をN,N-ジメチルホルムアミド中で加熱下にアジ化ナトリウムと一晚反応させると、式(VIII-1)の化合物が生成される。式(VIII-1)の化合物を1~4N HCl-ジオキサン中で脱保護反応にかけると、式(I

d)の本発明化合物(化合物No. 4)が生成される。

【0063】さらにまた、第六の本発明においては、次式(VIII)

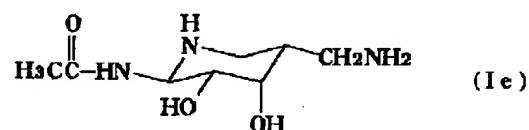


(式中、R^{1a}はイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で示されるN-保護-4,5-O-保護-3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBのアジド基を還元反応にかけて次式(IX)



(式中、R^{1a}、X¹およびX²は前記と同じ意味をもつ)で示される化合物を生成し、次いで式(IX)の化合物か*

*ら残留する保護基(R^{1a}、X¹、X²)を常法で脱離するか、あるいは式(VIII)の化合物から保護基(R^{1a}、X¹、X²)を先づ常法で脱離して式(Id)の3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(Id)の化合物のアジド基を還元反応にかけるとを特徴とする、次式(Ie)

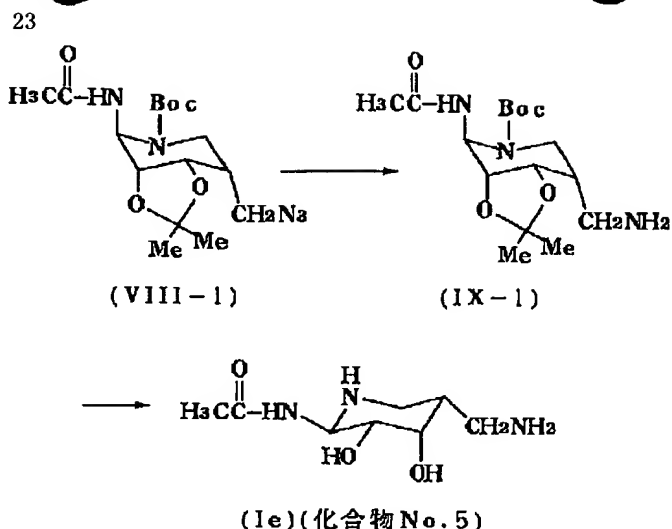


で示される3-アミノメチル-3-デカルボキシシアスタチンBの製造法が提供される。

【0064】第六の本発明方法では、第五の本発明方法で生成できる式(VIII)の化合物を出発化合物として使用できる。式(VIII)の化合物のアジド基をアミノ基に転化するためには、式(VIII)の化合物を、酢酸エチル等の溶媒に溶解し、その溶液にラネーニッケル等の金属触媒を加え、これの存在下に水素ガス流下、室温で還元すると、式(IX)の化合物が得られる。式(IX)の化合物から保護基(R^{1a}、X¹、X²)を第二の本発明方法におけると同様な要領で脱離させると、式(Ie)の本発明化合物(化合物No. 5)が生成される。

【0065】第六の本発明方法において、式(VIII)の化合物として、後記の式(VIII-1)で示される3-アジドメチル-3-デカルボキシ-1-ターシャリーブトキシカルボニル-4,5-O-イソプロピリデンシアスタチンBを用いる場合の各工程を下記の反応チャート4に示す。

【0066】反応チャート4



【0067】反応チャート4について説明するに、式 (VIII-1) の化合物を酢酸エチルに溶解し、その溶液に ラネーニッケルを加えて水素ガス流下で室温で攪拌して 還元反応を行う。その反応液から、生成された式 (IX-1) の化合物を回収し、さらに1~4 N HCl-ジオキサン中で、脱保護反応にかけると、式 (Ie) の本発明化合物 (化合物 No. 5) が生成される。

【0068】第二~第六の本発明の方法で得られた化合物 No. 1~No. 5 が塩酸塩などの酸付加塩の形で得られる場合には、その酸付加塩の水溶液を常法により陽イオン交換樹脂、例えばダウウェックス 50 W (米国ダウケミカル社製) (H⁺型) で処理することにより、またはアンモニアを含有する溶媒系によるクロマトグラフィーで精製することにより遊離塩基の形の化合物 No. 1、2、3、4 および 5 が夫々に得られる。

【0069】

【発明の実施の形態】以下に、第二の本発明方法で用いる式 (II) の出発化合物として利用できる前出の式 (II-1) の N-(ターシャリープトキシカルボニル)-4, 5-O-イソプロピリデンシアスタチン B のメトキシエトキシメチルエステルの製造を例示する参考例 1 を示す。また、本発明による式 (Ia) の化合物の製造を例示する実施例 1、式 (Ib) の化合物の製造を例示する実施例 2、式 (Ic) の化合物の製造を例示する実施例 3、式 (Id) の化合物の製造を例示する実施例 4、さらに式 (Ie) の化合物の製造を例示する実施例 5 を示して本発明を具体的に説明する。しかしながら、これら実施例は単に例示であって本発明を限定するものではない。本発明の範囲内で種々の変形および修正が可能である。

【0070】参考例 1

(a) N-(ターシャリープトキシカルボニル)-4, 5-O-イソプロピリデンシアスタチン B の製造
N-(ターシャリープトキシカルボニル)-シアスタチン B (0.955 g、3 mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (15 ml) に懸濁させ、これに 2, 2-ジメトキ

シプロパン (3.69 ml、30 mmol) およびクロロトリメチルシラン (1.90 ml、15 mmol) を加えた。得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した後、反応溶液にピリジン (1.5 ml) を加えて反応を停止させた。

【0071】反応溶液をクロロホルムで希釈し、これに水を加えて抽出した後、水相をクロロホルム-メタノール (9:1) の混合溶液で 3 回抽出した。有機相を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮し、残留物をトルエンで 3 回共沸した後、展開溶媒としてクロロホルム-メタノール-濃アンモニア水 (2:1:0.3) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。無色泡末状の固体として表題の化合物を 1.05 g (98%) 得た。比旋光度 $[\alpha]_D^{25} + 29^\circ$ (c 0.88、メタノール)。

【0072】(b) N-(ターシャリープトキシカルボニル)-4, 5-O-イソプロピリデンシアスタチン B の 2-メトキシエトキシメチルエステルの製造

前記 (a) で得た生成物 (2.51 g、7 mmol) を DMF (50 ml) に溶解し、これにジイソプロピルエチルアミン (4.88 ml、28 mmol) および塩化 2-メトキシエトキシメチル (1.60 ml、14 mmol) を加えた。得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した。その後、反応溶液に水 (0.2 ml) を加えて反応を停止させた。

【0073】反応溶液をクロロホルムで希釈し、これに水を加えて抽出した後、水相をクロロホルムで 3 回抽出した。有機相を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮し、残留物をトルエンで 3 回共沸した後、展開溶媒としてクロロメタン-メタノール (20:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。無色シロップとして表題の化合物 [前出の式 (II-1) の化合物] を 2.61 g (83%) 得た。比旋光度 $[\alpha]_D^{25} - 18.7^\circ$ (c 0.91、クロロホルム)。

【0074】実施例 1

(1) N-(ターシャリープトキシカルボニル)-4, 5-O-

-イソプロピリデン-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB〔前出の式(III-1)の化合物〕の製造

参考例1(b)で得られた2-メトキシエトキシメチルエステル化合物(2.59g、5.8mmol)をテトラヒドロフラン(50ml)と2,2,2-トリフルオロエタノール(5ml)の混合溶媒に溶かし、これに水素化ホウ素ナトリウム(0.685g、17.4mmol)を加えた。その得られた混合物を室温で1時間攪拌して還元反応を行った。その後、反応溶液に水(1.5ml)を加えて反応を停止させ、さらに室温で30分間攪拌した。得られた反応液を減圧濃縮した後、残留物に水を加え、クロロホルムで3回抽出した。有機相(クロロホルム抽出液)を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてジクロロメタン-メタノール(12:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粉末状固体として表題の化合物を1.98g(99%)得た。比旋光度 $[\alpha]_D^{25} + 2.7^\circ$ (c 0.95、クロロホルム)。

【0075】(2) 3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(本発明の化合物No. 1)の製造
前項(1)で得た化合物の69mgを4M塩酸ジオキサン溶液3mlに溶かし、その溶液を室温で3時間攪拌して脱保護反応を行った。その反応液から溶媒を減圧留去し、残留物をメタノールで3回共沸した後、分取用TLC(展開溶媒:クロロホルム-メタノール-濃アンモニア水, 20:10:3)で精製した。得られた精製物をセファデックス LH20(メタノールで展開)でさらに精製し、無色不定形固体として式(Ia)の表題化合物26mg(収率63%)を得た。

【0076】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 58.8^\circ$ (c 0.37、メタノール)

¹H-NMRスペクトル(400MHz, CD₃OD, δ ppm): 2.04(1H, m, 3-H), 2.06(3H, s, -NHCOCH₃), 3.07-3.14(2H, m, 2-H), 3.57(1H, dd, J=10.8, 7.3Hz, -CH₂OH), 3.69(1H, dd, J=10.8, 6.3Hz, -CH₂OH), 3.72(1H, dd, J=10.3, 2.4Hz, 5-H), 4.09(1H, t, J=2.4Hz, 4-H), 4.95(1H, d, J=10.3Hz, 6-H)。

【0077】実施例2

(1) 3-デカルボキシ-1-ターシャリーブトキシカルボニル-4,5-O-イソプロピリデン-3-(パラトルエンスルホニル)オキシメチルシアスタチンB〔式(V-1)の化合物〕の製造

実施例1(1)で得た式(III-1)の化合物の207mgを無水ピリジン4mlに溶かし、これに塩化パラトルエンスルホニル172mgを加え、室温で一晩攪拌してスルホニル化反応を行った。その反応液に水50 μ lを加えて反応を停止させた後、反応液をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で3回洗浄した。有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、綿栓ろ過した。

ろ液の溶媒を減圧留去した。残留物をトルエンで3回共沸した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出溶媒:トルエン-アセトン, 5:1)で精製し、無色粉末として表題化合物252mg(収率84%)を得た。

【0078】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 4.6^\circ$ (c 0.45、クロロホルム)

¹H-NMRスペクトル(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 1.25, 1.35(3H, each s, イソプロピリデン), 1.45(9H, s, -NCOOC(CH₃)₃), 1.97(3H, s, -NHCOCH₃), 2.33(1H, br m, 3-H), 2.46(3H, s, CH₂-C₆H₄-), 2.93(1H, t, J=12.2Hz, 2-Hax), 3.42(1H, dd, J=12.2, 3.4Hz, 2-Heq), 3.92(1H, dd, J=10.0, 8.1Hz, -CH₂O-), 4.15(1H, dd, J=10.0, 6.1Hz, -CH₂O-), 4.36(1H, dd, J=7.3, 2.0Hz, 5-H), 4.58(1H, br d, J=5.9Hz, 4-H), 5.68(2H, br m, 6-H, -NHCO-), 7.37(2H, d, J=7.8Hz, -C₆H₄-), 7.80(2H, d, J=8.3Hz, -C₆H₄-)。

【0079】(2) 3-デカルボキシ-1-ターシャリーブトキシカルボニル-4,5-O-プロピリデン-3-メチルチオメチルシアスタチンB〔式(VII-1)の化合物〕の製造

前項(1)で得たスルホニル化合物の150mgをN,N-ジメチルホルムアミド3mlに溶かし、これにナトリウムチオメトキシド105mgを加え、110℃で一晩攪拌下に反応を行った。その反応液を室温まで冷却した後、クロロホルムで希釈し、水で3回洗浄した。このとき、水相は1回毎にクロロホルムで逆抽出した。有機相を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、綿栓ろ過した。ろ液の溶媒を減圧留去した。残留物をトルエンで3回共沸した後、分取用TLC(酢酸エチルで展開)で精製し、無色粉末として表題化合物を得た。

【0080】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 31.7^\circ$ (c 0.95、クロロホルム)

¹H-NMRスペクトル(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 1.33, 1.44(3H, each s, イソプロピリデン), 1.46(9H, s, -NCOOC(CH₃)₃), 1.99(3H, s, -NHCOCH₃), 2.00(1H, br s, 3-H), 2.16(3H, s, -SCH₃), 2.49(1H, dd, J=13.2, 6.8Hz, -CH₂S-), 2.70(1H, dd, J=13.2, 7.3Hz, -CH₂S-), 3.01(1H, t, J=12.2Hz, 2-Hax), 3.56(1H, dd, J=12.2, 3.9Hz, 2-Heq), 4.48(1H, dd, J=7.3, 2.4Hz, 5-H), 4.57(1H, dd, J=6.8, 2.4Hz, 4-H), 5.70(2H, br m, 6-H, -NHCO-)。

【0081】(3) 3-メチルチオメチル-3-デカルボキシシアスタチンB(本発明の化合物No. 2)の製造
前項(2)で得た式(VII-1)の化合物の75mgを4M塩酸-ジオキサン溶液3mlに溶かし、室温で一晩攪拌して脱保護反応を行った。その反応液から溶媒を減圧留去し、残留物をメタノールで3回共沸した後、分取用TLC(展開溶媒:クロロホルム-メタノール-濃アンモニア水, 60:10:1)で精製した。得られた精製物をLH20(メタノールで展開)でさらに精製して、無色不

定形固体として式 (1b) の表題化合物 30 mg (収率 91%) を得た。

【0082】比旋光度: $[\alpha]_D^{24} + 19.8^\circ$ (c 0.09、メタノール)

¹H-NMR スペクトル (400MHz, CD₃OD, δ ppm): 1.83 (1H, m, 3-H), 1.98 (3H, s, -NHCOC(=O)CH₃), 2.08 (3H, s, -SC(=O)CH₃), 2.45 (1H, dd, J=13.2, 7.3Hz, -CH₂S-), 2.69 (1H, dd, J=13.2, 7.8Hz, -CH₂S-), 2.73-2.83 (2H, m, 2-H), 3.37 (1H, dd, J=9.8, 2.4Hz, 5-H), 4.06 (1H, t, J=2.4Hz, 4-H), 4.64 (1H, d, J=9.8Hz, 6-H)。

【0083】実施例 3

3-メチルスルフィニルメチル-3-デカルボキシシアスタチン B (本発明の化合物 No. 3) の製造
本発明化合物 No. 2 の 19 mg を水 0.4 ml に溶かし、その溶液に 30% 過酸化水素水 0.1 ml を加え、室温で 4 時間攪拌して酸化反応を行った。その反応液から溶媒を減圧留去し、残留物をメタノールで 3 回共沸した後、分取用 TLC (展開溶媒: クロロホルム-メタノール-濃アンモニア水, 20:10:3) で精製した。得られた精製物を L H 20 (メタノールで展開) でさらに精製し、無色不定形固体として表題化合物 18 mg (収率 87%) を得た。

【0084】¹H-NMR スペクトル (400MHz, CD₃OD, δ ppm): 1.99 (3H, s, -NHCOC(=O)CH₃), 2.20-2.30 (1H, m, 3-H), 2.67 (3H, s, -SOCH₃), 2.70-3.00 (4H, m, 2-H, -CH₂SO-), 3.46, 3.48 (total 1H, each t, J=2.4, 2.7Hz, 5-H), 3.98, 4.12 (total 1H, t, br s J=2.4Hz, 4-H), 4.69, 4.72 (1H, each d, J=2.0Hz, 6-H)。

【0085】実施例 4

(1) 3-アジドメチル-3-デカルボキシ-1-ターシャリープトキシカルボニル-4, 5-O-イソプロピリデンシアスタチン B [式 (VIII-1) の化合物] の製造
実施例 2 (1) で得た式 (V-1) のスルホニル化合物の 150 mg を N, N-ジメチルホルムアミド 3 ml に溶かし、これにアジ化ナトリウム 98 mg を加え、100℃で一晩攪拌して、アジ化反応を行った。その反応液を室温まで冷却した後、クロロホルムで希釈し、水で 3 回洗浄した。このとき、水相は 1 回毎にクロロホルムで逆抽出した。有機相を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、綿栓ろ過した。ろ液の溶媒を減圧留去した。残留物をトルエンで 3 回共沸した後、分取用 TLC (酢酸エチルで展開) で精製し、無色シロップとして表題化合物 105 mg (収率 95%) を得た。

【0086】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 13.3^\circ$ (c 0.81、クロロホルム)

¹H-NMR スペクトル (400MHz, CDCl₃, δ ppm): 1.33, 1.44 (3H, each s, イソプロピリデン), 1.47 (9H, s, -NCOOC(CH₃)₃), 1.99 (3H, s, -NHCOC(=O)CH₃), 2.06 (1H, br m, 3-H), 2.99 (1H, t, J=12.2Hz, 2-Hax), 3.28 (1H, dd, J=12.2, 7.3Hz, -CH₂N₃), 3.48-3.57 (2H, m, 2-Heq, -CH₂N

), 4.20 (1H, dd, J=7.3, 2.0Hz, 5-H), 4.61 (1H, br d, J=4.9Hz, 4-H), 5.68 (2H, br m, 6-H, -NHC(=O)-)。

【0087】(2) 3-アジドメチル-3-デカルボキシシアスタチン B (本発明の化合物 No. 4) の製造

前項 (1) で得た化合物の 43 mg を 4 M 塩酸-ジオキサン溶液 2 ml に溶かし、その溶液を室温で 2 時間攪拌して脱保護反応を行った。その反応液から溶媒を減圧留去し、残留物をメタノールで 3 回共沸した後、分取用 TLC (展開溶媒: クロロホルム-メタノール-濃アンモニア水, 40:10:1) で精製した。得られた精製物を L H 20 (メタノール) でさらに精製し、無色不定形固体として式 (Id) の表題化合物 14 mg (収率 54%) を得た。

【0088】比旋光度: $[\alpha]_D^{26} + 25.7^\circ$ (c 0.25、メタノール)

¹H-NMR スペクトル (400MHz, CD₃OD, δ ppm): 1.87 (1H, m, 3-H), 1.98 (3H, s, -NHCOC(=O)CH₃), 2.72 (1H, dd, J=12.0, 4.6Hz, 2-Heq), 2.78 (1H, t, J=12.0Hz, 2-Hax), 3.28 (1H, dd, J=12.2, 7.8Hz, -CH₂N₃), 3.37 (1H, dd, J=9.3, 2.9Hz, 5-H), 3.44 (1H, dd, J=9.3, 7.3Hz, -CH₂N₃), 4.00 (1H, t, J=2.2Hz, 4-H), 4.64 (1H, d, J=9.3Hz, 6-H)。

【0089】実施例 5

(1) 3-アミノメチル-3-デカルボキシ-1-ターシャリープトキシカルボニル-4, 5-O-イソプロピリデンシアスタチン B [式 (IX-1) の化合物] の製造

実施例 4 (1) で得られた式 (VIII-1) の化合物の 104 mg を酢酸エチル 1 ml とメタノール 1 ml の混合溶媒に溶かし、これにラネーニッケルを加え、水素気流下、室温で 2 時間攪拌して還元反応を行った。その反応液を綿栓ろ過してラネーニッケルを除いた。ろ液の溶媒を減圧留去した。残留物を分取用 TLC (展開溶媒: クロロホルム・メタノール・濃アンモニア水, 90:10:1) で精製し、無色不定形固体として表題化合物 105 mg (収率 95%) を得た。

【0090】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} + 34.3^\circ$ (c 0.92、クロロホルム)

¹H-NMR スペクトル (400MHz, CDCl₃, δ ppm): 1.33, 1.43 (3H, each s, イソプロピリデン), 1.46 (9H, s, -NCOOC(CH₃)₃), 1.93 (3H, s, 3-H), 1.97 (3H, s, -NHCOC(=O)CH₃), 2.75 (1H, dd, J=12.7, 6.4Hz, -CH₂NH₂), 2.88 (1H, dd, J=12.7, 7.8Hz, -CH₂NH₂), 3.02 (1H, t, J=12.2Hz, 2-Hax), 3.46 (1H, dd, J=12.2, 3.9Hz, 2-Heq), 4.46 (1H, dd, J=7.3, 2.0Hz, 5-H), 4.56 (1H, br d, J=5.9Hz, 4-H), 5.76 (2H, br m, 6-H, -NHC(=O)-)。

【0091】(2) 3-アミノメチル-3-デカルボキシシアスタチン B (本発明の化合物 No. 5) の製造

前項 (1) で得た化合物の 46 mg を 4 M 塩酸-ジオキサン溶液 2 ml に溶かし、その溶液を室温で一晩攪拌して脱保護反応を行った。その反応液から溶媒を減圧留去し、残留物をメタノールで 3 回共沸した後、L H 20 (メタ

29

ノールで展開)で精製し、無色粉末として式(Ie)の表題化合物の塩酸塩 28 mg (収率 77%)を得た。

【0092】比旋光度: $[\alpha]_D^{25} +21.5^\circ$ (c 0.41、メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (400MHz, CD_3OD , δ ppm): 1.68 (1 *

30

* H, m, 3H), 1.98 (3H, s, $-\text{NHCOCH}_3$), 2.61 (1H, dd, $J=1$ 2.7, 6.3Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$), 2.65-2.80 (3H, m, 6-H, $-\text{CH}_2\text{N}$ H₂), 3.35 (1H, dd, $J=9.8$, 2.4Hz, 3-H), 4.04 (1H, t, $J=2.4$ Hz, 4-H), 4.61 (1H, d, $J=9.8$ Hz, 2-H)。

フロントページの続き

(72)発明者 竹内 富雄

東京都品川区東五反田 5 丁目 1 番 11 号 ニ
ユーフジマンション 701